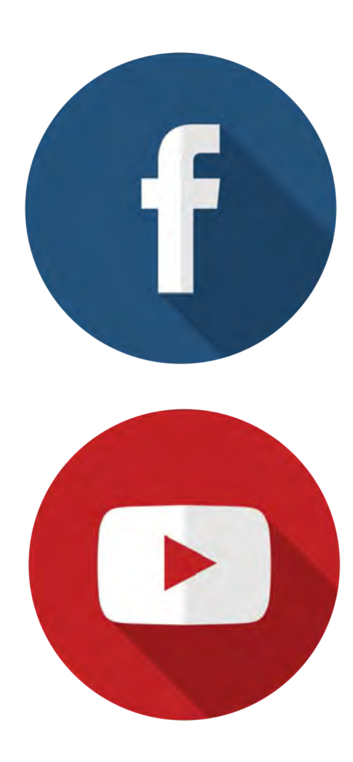
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful

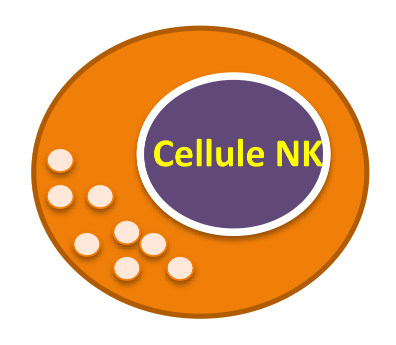






LES CELLULES TUEUSES NATURELLES (« NATURAL KILLER CELLS »)

Prof. M GHAFFOR
Laboratoire d' Immunologie – Faculté de Médecine d'Alger
Laboratoire Central de Biologie Médicale – CHU Béni-Messous- Alger
Email: medecine.3a@gmail.com



LES CELLULES TUEUSES NATURELLES
N.K. (NATURAL KILLERS)

I) INTRODUCTION

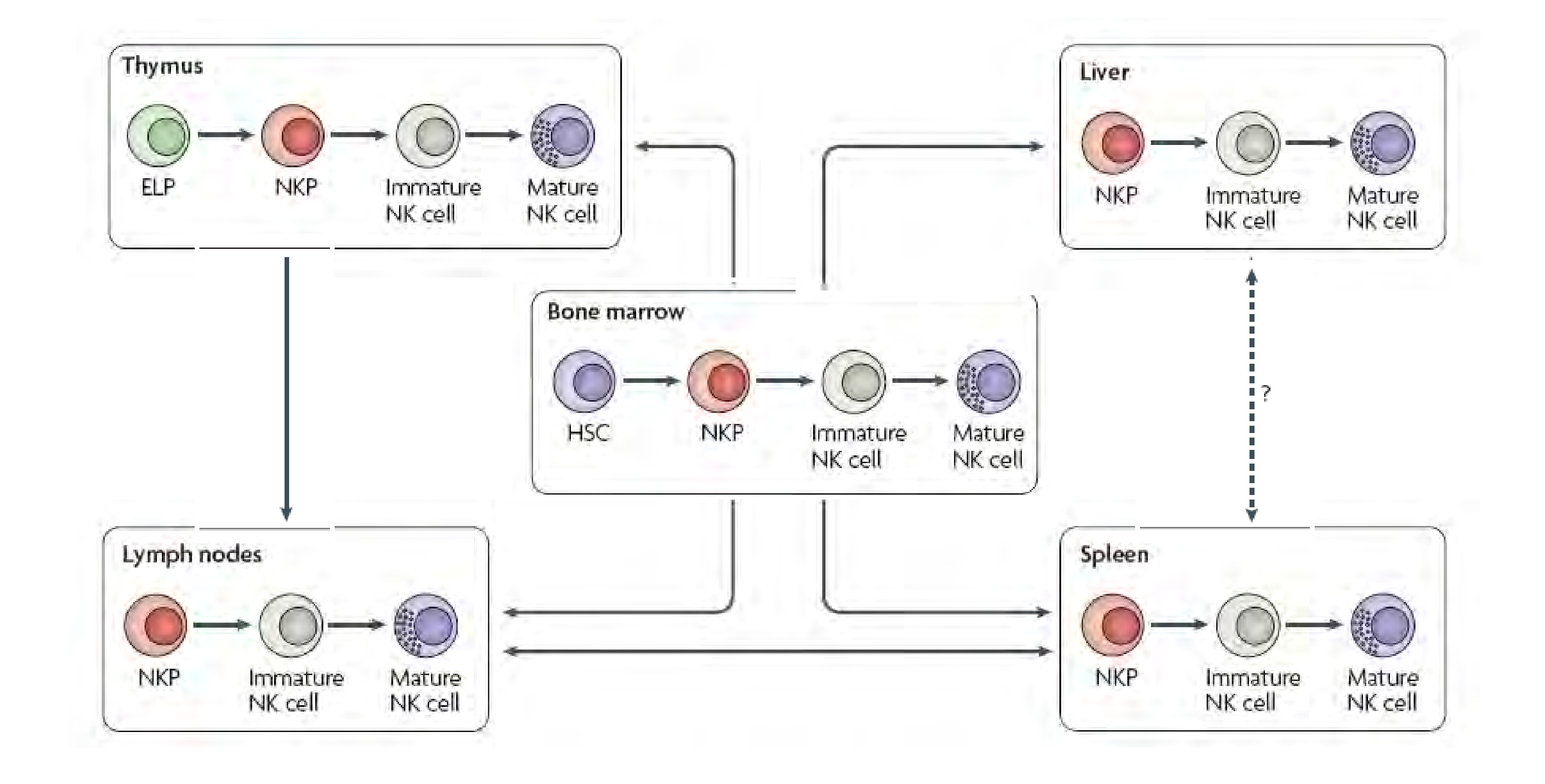
- N.K. : **Troisième type de lymphocytes**
- **Pas de TCR ni de BCR** (pas de récepteurs spécifiques à l'Ag)
- Impliquées dans R.I. innée ou naturelle **(R.I. non spécifique)**
- Lysent spontanément et directement les cellules tumorales
- Lysent indirectement des cellules infectées par un virus et opsonisées par des anticorps (« Antibody Dependant Cell Cytotoxicity » ou **« ADCC »**)
- **5 à 20%** des Ly du sang périphérique soit **200 à 400/µL** (localisation principalement splénique)
- Mode de reconnaissance très peu sophistiqué : **aucune CPA n'est nécessaire** ; pas de restriction notamment par le CMH.

II) ONTOGENIE DES CELLULES NK

1) Différenciation et maturation des cellules N.K.

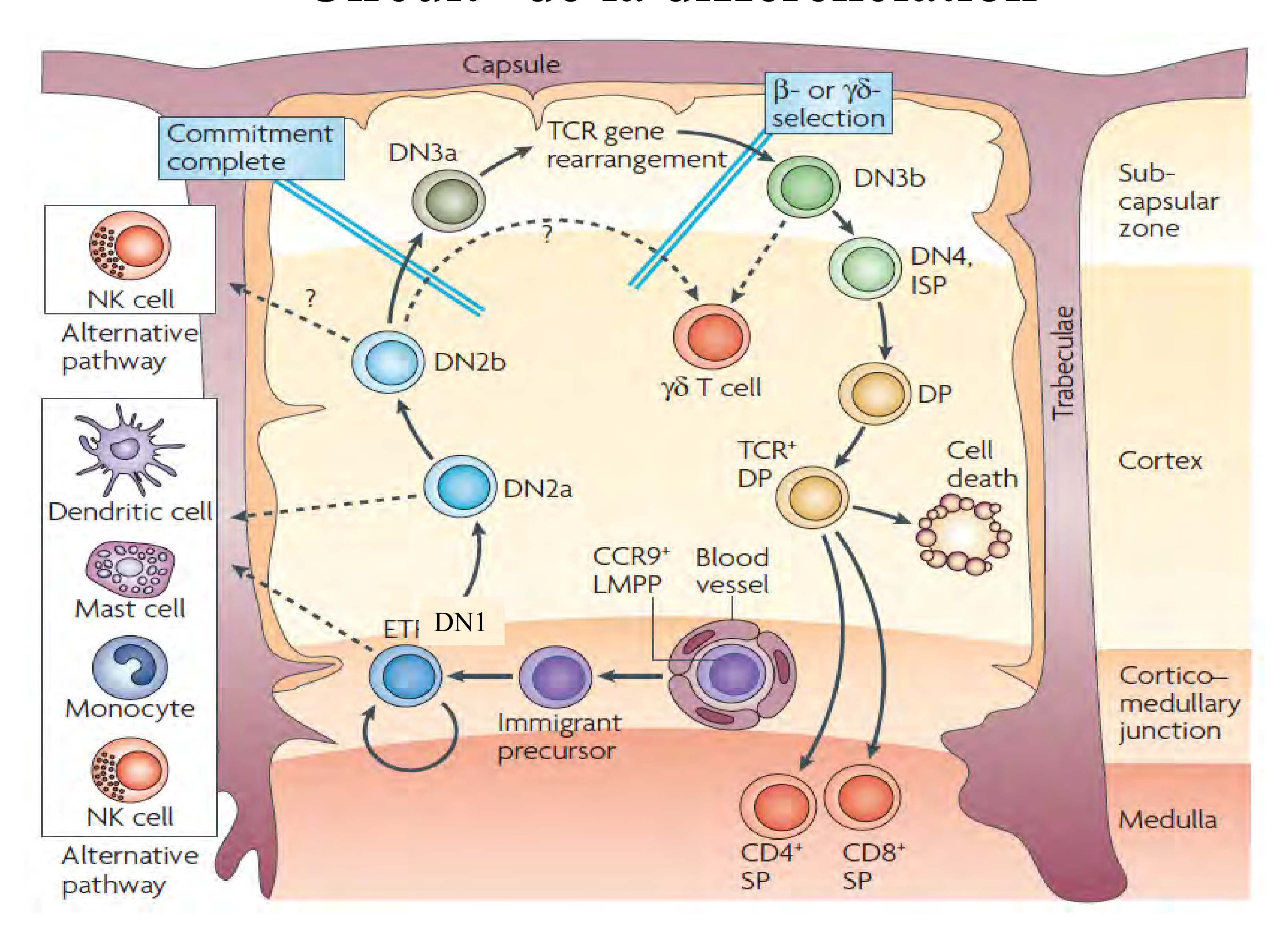
- Dérivent d'un **progéniteur commun** avec les Ly T
- D'origine lymphocytaire, elles ne sont **« ni T ni B »**
- Pas de réarrangement des gènes de récepteurs ; pas de développement intrathymique?
- Différenciation dans la moelle osseuse
- Certains organes (foie, utérus) +++
- Ganglions périphériques : quasiment dépourvus

La différenciation NK



IL-15 primordiale pour maturation et maintien vie en périphérie.

“Circuit” de la différenciation



III) Caractérisation des cellules N.K

.

- Microscopie optique : **LGL** (« Large Granular Lymphocytes »)
- Pas encore de marqueurs spécifiques
- Récepteur spécifique du compartiment N.K. : **NKp46**, NKp44, NKp30
- **Phénotype des cellules N.K. : CD3–, CD16+, CD56+, CD94+, LFA1+**

IV) Propriétés fonctionnelles des cellules N.K.

- Avec les macrophages et les PNN, les **N.K.** sont l'une des composantes de l'immunité cellulaire innée.
  - Les cellules NK sont prêtes à protéger le corps avec une réponse immunitaire rapide en attendant le développement de la réponse immunitaire acquise

1) Production de cytokines :

- Les N.K. interviennent dans la **coopération cellulaire** par la production de **cytokines**
- Produisent des cytokines de type **TH1 (IFNγ)** et de type **TH2** (**IL-4, IL-5**, IL-10 et IL-13)
- Produisent des cytokines:
  - ❑ **pro-inflammatoires** (TNFα, IL-10, TGFβ, IL-3) et
  - ❑ des **chémokines** : **IL-8,** MIP-1α, MIP-1β, RANTES

IV) Propriétés fonctionnelles des cellules N.K. (suite)

2) Contrôle de la qualité de l'expression du CMH classe I

- L'action des cellules N.K doit être bien contrôlée, car potentiellement **autoréactives**

- Les molécules du **CMH classe I** exprimées sur une cellule cible tumorale ou infectée, la protègent de la cytotoxicité N.K . (concept du **« soi manquant » ou « missing self »)**

- **KIR (« Killer Inhibitory Receptors »)** : récepteurs pour les molécules du CMH classe I capable d'inhiber à la fois le programme de cytotoxicité et de production de cytokines des cellules N.K.

- **KIR** permettent de différencier les cellules normales saines, des cellules tumorales ou infectées par un virus:
  - ***l'absence ou l'altération*** *de l'expression d'un ou de plusieurs* ***allèles de classe I*** *conduit à la lyse cellulaire par les cellules N.K.*

IV) Propriétés fonctionnelles des cellules N.K. (suite)

3) Cytotoxicité :

- Utilisent la même machinerie cellulaire que celle des LyTc, pour détruire leurs cibles cellulaires par **cytotoxicité directe** ou par **ADCC**
- Exocytose de granules contenant de la **Perforine** et du **Granzyme**
- Expression du **Fas-L** ou du **TRAIL** (« TNF Related Apoptosis Inducing Ligand »)
- **Pas de récepteur intrinsèque pour l'Ag**
- Acquisition d'un « répertoire » antigénique par fixation d'IgG via le **CD16** (signal activateur)

V) RECEPTEURS DES CELLULES NK

- NK expriment des récepteurs reconnaissant des ligands exprimés sur des cellules cibles (**récepteurs invariables**, au contraire des TCRs des lymphocytes T)
- NK expriment des récepteurs **activateurs** et **inhibiteurs.**
- Lorsque les **Rs** activateurs ou inhibiteurs reconnaissent leurs ligands, des **signaux** seront délivrés qui vont influencer les ***fonctions*** des cellules NK (tuer ou ne pas tuer)

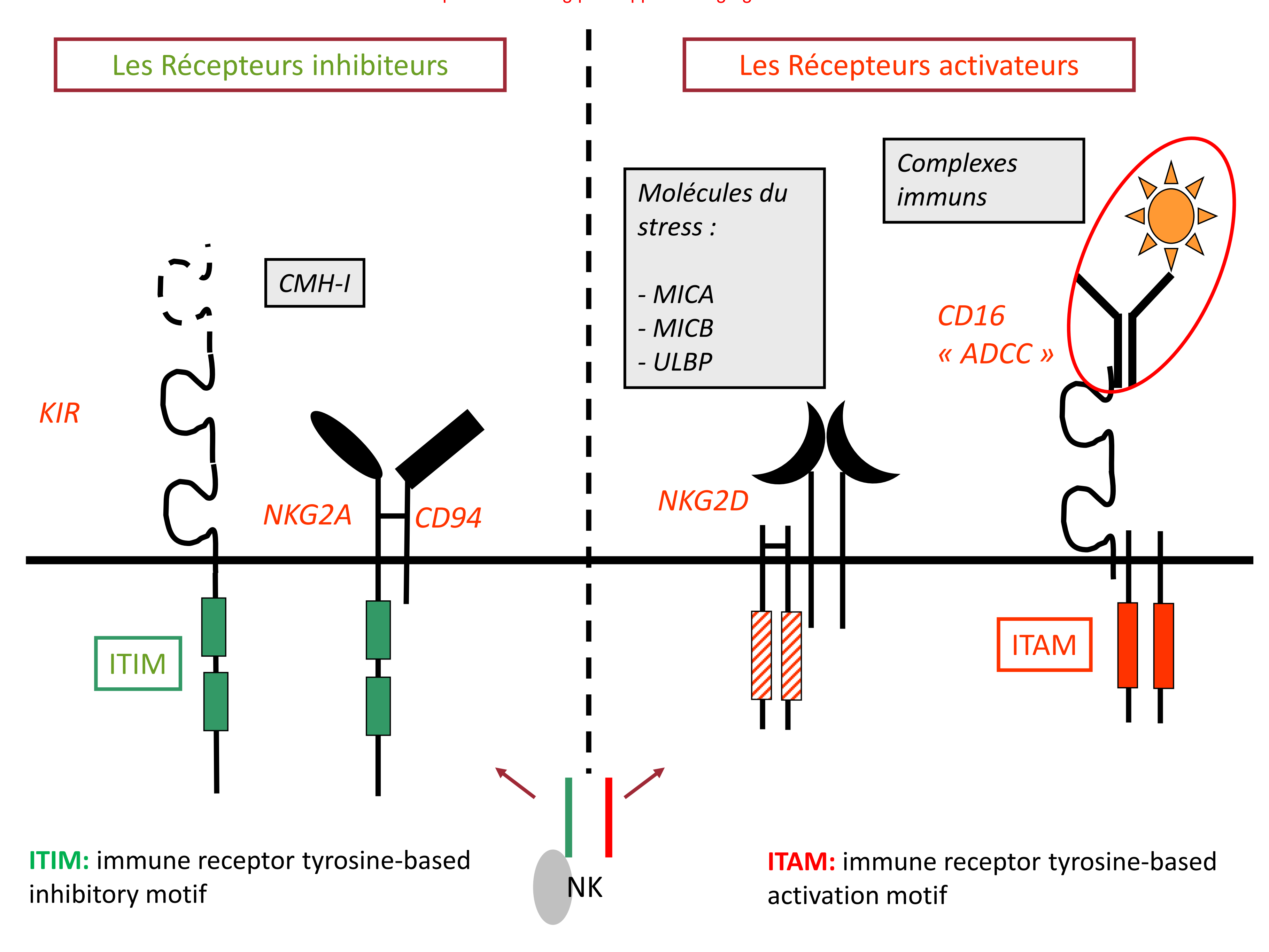
RECEPTEURS DES CELLULES NK

RECEPTEURS INHIBITEURS

- **KIR-L** inhibiteurs
- **NKG2A** (CD159a), **NKG2B** (CD159b)

RECEPTEURS ACTIVATEURS

- **KIR-S** activateurs
- **CD16**
- **NCR** (Natural Cytotoxicity Receptors)
- ***CD94/NKG2C***
- ***NKG2D***



ITIM: immune receptor tyrosine-based inhibitory motif

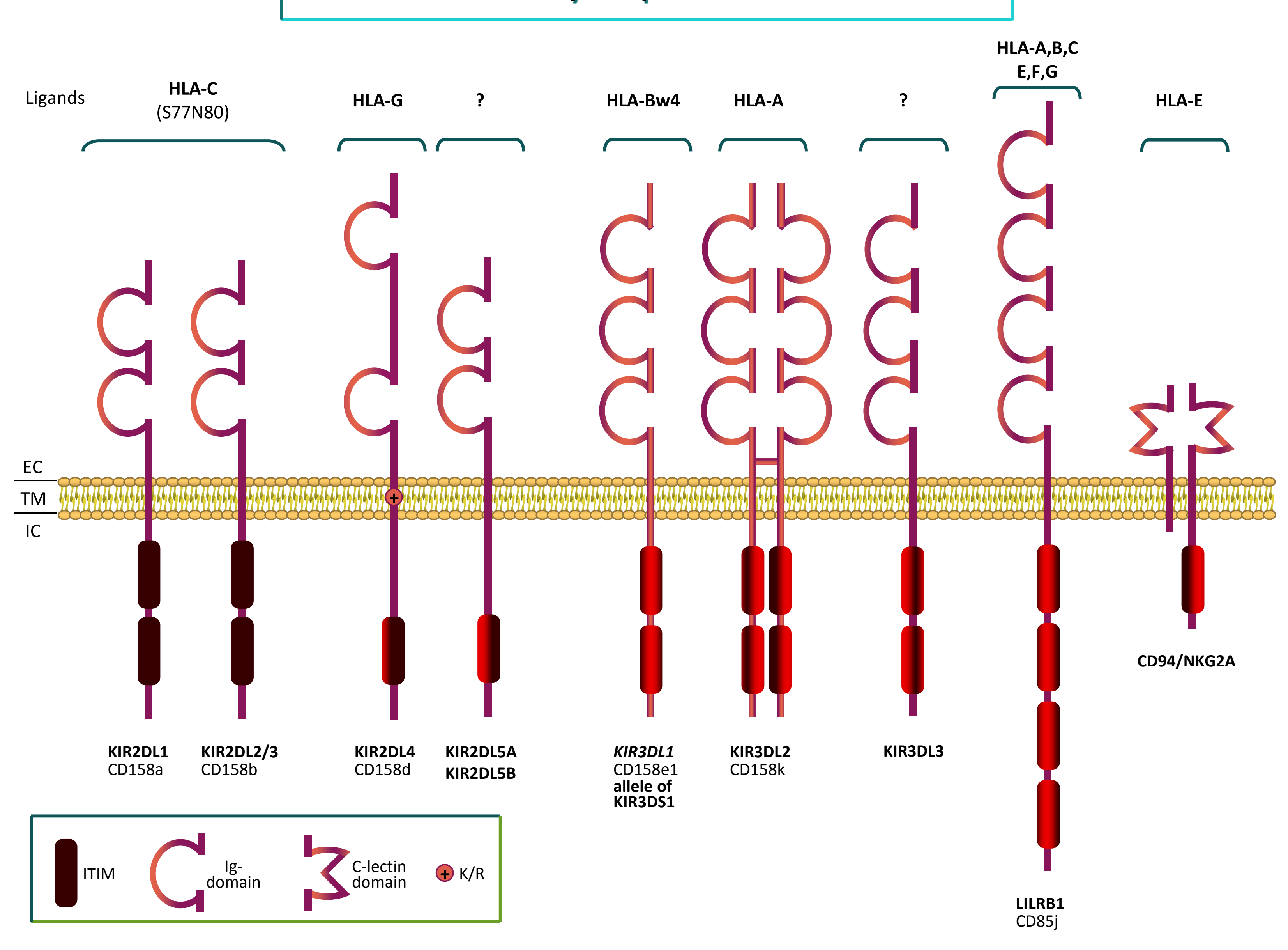
ITAM: immune receptor tyrosine-based activation motif

V) LES RECEPTEURS DES CELLULES NK

Les récepteurs inhibiteurs

- **KIR-L** (**K**iller-cell **I**g-like **R**eceptor **L**ong)
  - inhibiteurs appartiennant à la superfamille des Ig
  - 8 KIRs différents sont actuellement connus **(CD 158)**
  - Ligands : molécules **CMH classe I** (A, B et C)
- **NKG2A** (CD159a), NKG2B (CD159b)
  - appartiennent à la superfamille des **lectine de type C** et ont pour ligand, une molécule du CMH non classique : **HLA-E**

Human NK Inhibitory Receptors for MHC Class I



V) LES RECEPTEURS DES CELLULES NK

Les récepteurs activateurs

- **CD16** : récepteur de faible affinité pour les IgG : récepteur activateur de la cytotoxicité dépendante des Ac **(ADCC)** des cellules N.K.

- **NCR** (Natural Cytotoxicity Receptors)
  - NKp 30, NKp44 et **NKp46**
  - Ligands : Ag viraux (lyse des cellules Infectées)

- **KIR-S** activateurs différents des KIR inhibiteurs par leur partie intracytoplasmique très courte (KIR-S «short ») ne possédant **pas de motif ITIM**

V) LES RECEPTEURS DES CELLULES NK

Les récepteurs activateurs

CD94/NKG2C

- De la même façon qu'il existe pour les KIR des couples de récepteurs homologues inhibiteurs et activateurs, le récepteur inhibiteur CD94/NKG2A possède un homologue activateur : CD94/NKG2C, tout comme CD94/NKG2A, a pour ligand HLA-E.

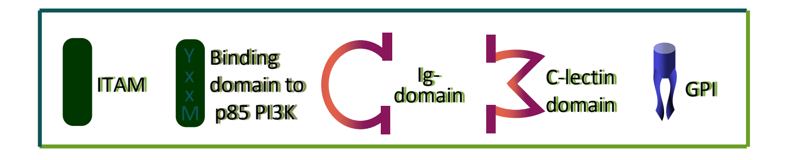
NKG2D

- Récepteur activateur important des cellules NK.
- Ligands de NKG2D sont les molécules ***M****HC class* ***I****-related* ***C****hain* ***A*** **(MICA)** et MICB, et les *UL16-binding proteins* (ULBP).
- Ligands surexprimés en cas de **stress cellulaire**, en particulier lors d'une **infection virale** ou d'une transformation tumorale.

Human NK Activatory Receptors

Ligands	HLA-C (Weak)	?	?	HLA-C (Weak)	?	?	HLA-A,B,C E,F,G	MICA, MICB ULBP	HLA-E
Receptor	KIR2DS1 CD158h DAP12	KIR2DS2 CD158j DAP12	KIR2DS3 CD158i DAP12	KIR2DS4 CD158g DAP12	KIR2DS5 CD158c DAP12	KIR3DS1 DAP12	CD160 CD2?	NKG2D DAP10	CD94/NKG2C, E DAP12

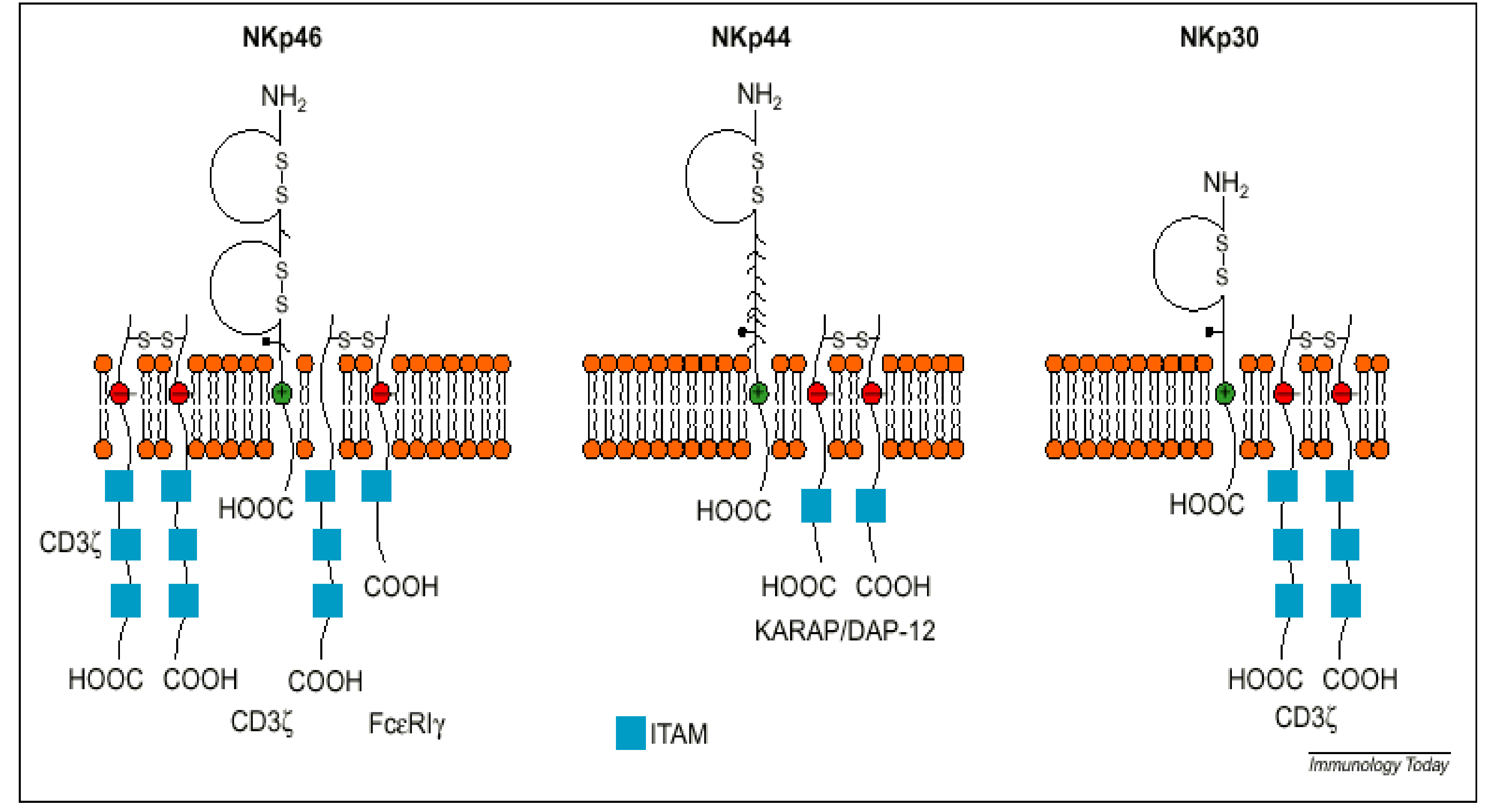
EC
TM
IC



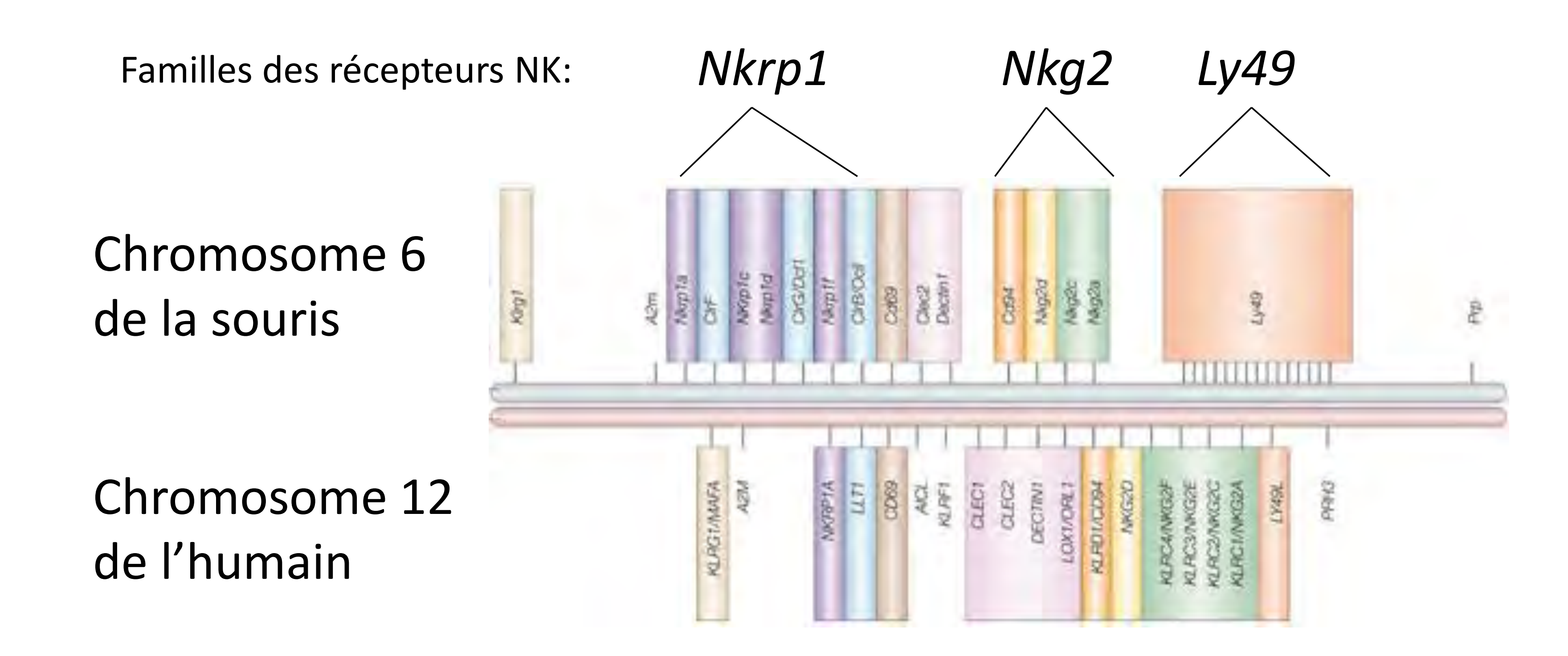
Natural Cytotoxicity Receptors (NCR)

Récepteurs spécifiques des cellules NK humaines

Toutes les NK	Cellules NK activées	Toutes les NK
Chromo 19	Chromo 6	Chromo 6

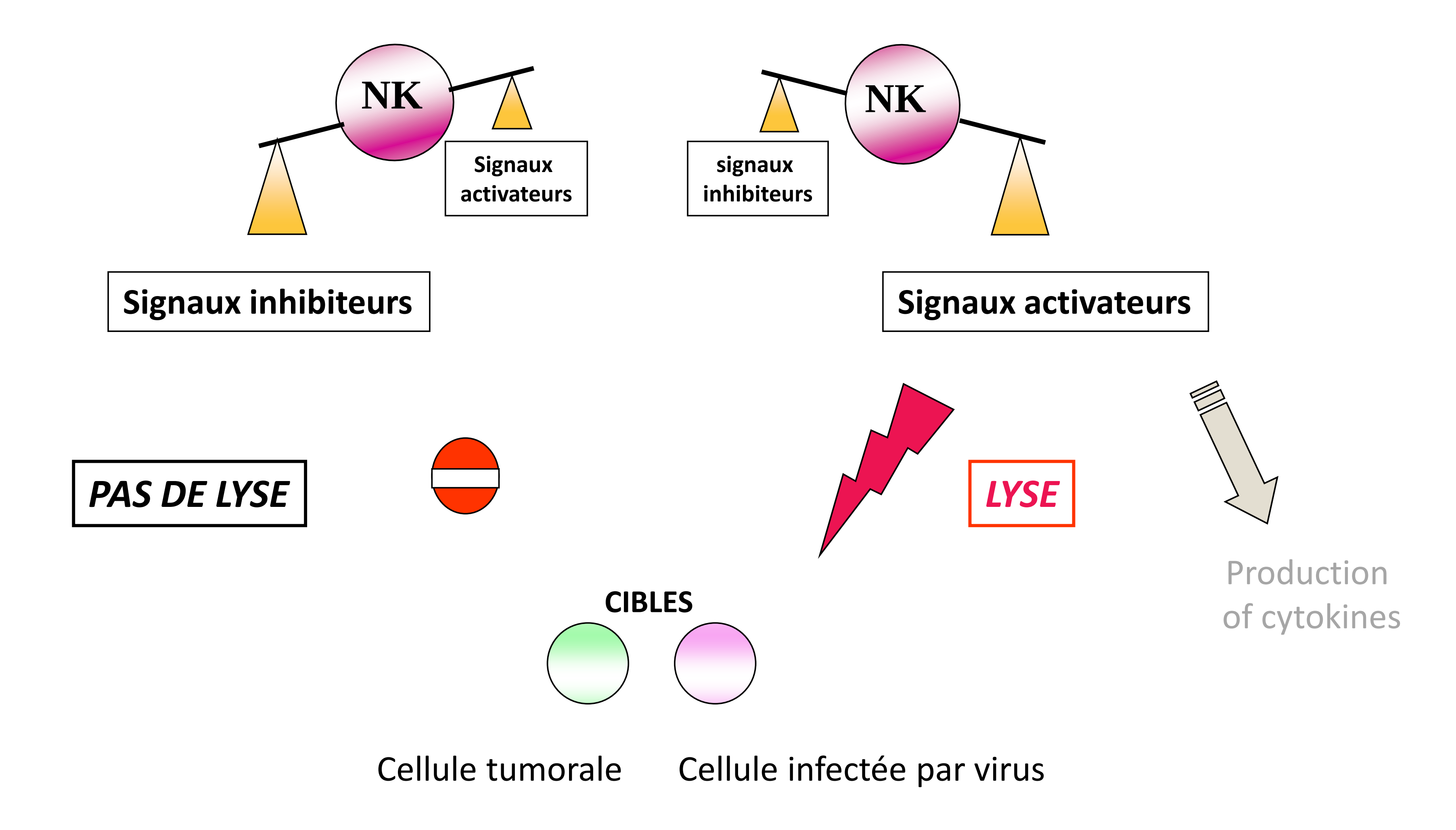


Où sont situés les récepteurs NK?

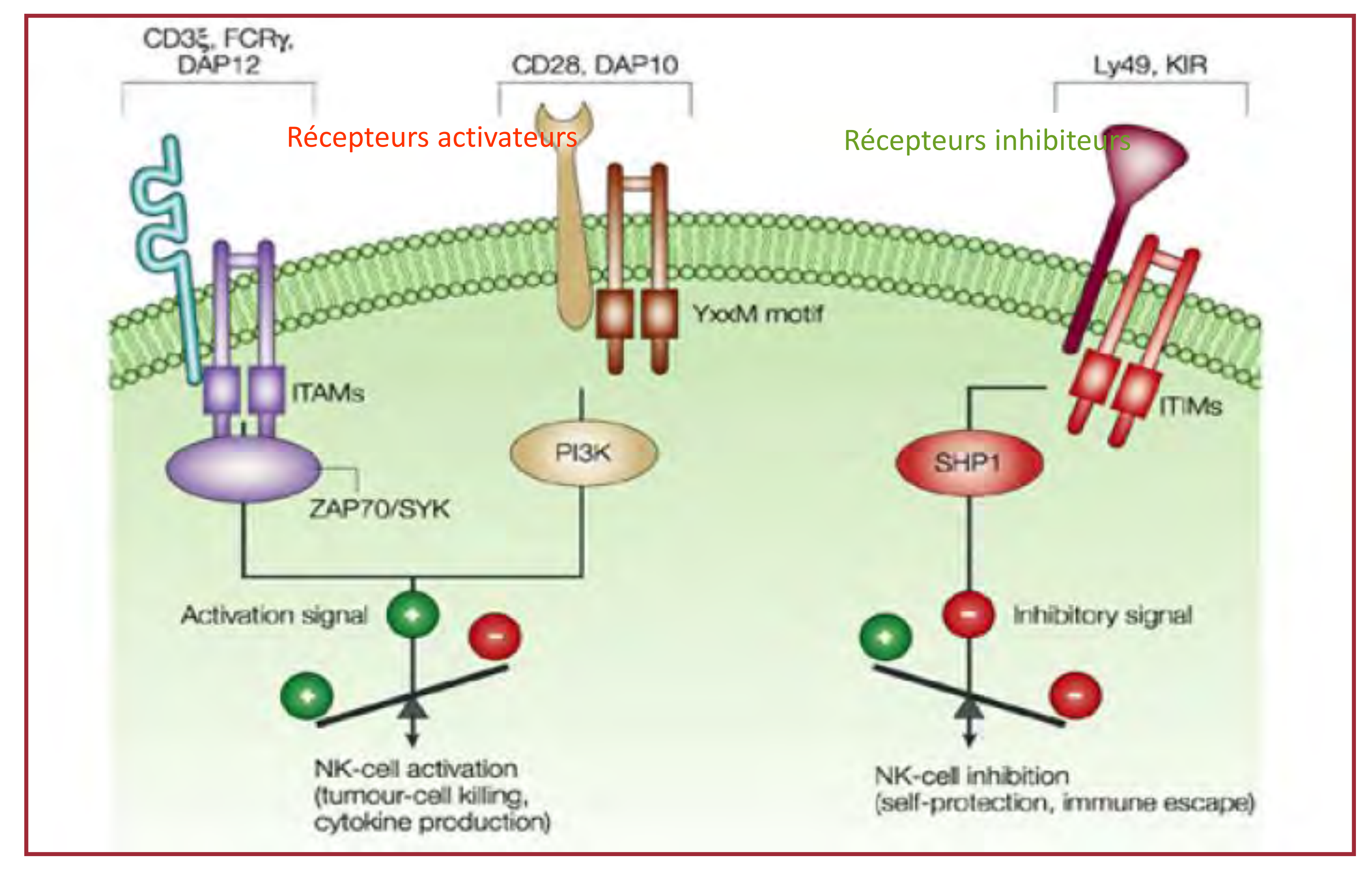


Complexe des gènes NK (NKC en anglais)

BIOLOGIE DES LYMPHOCYTES NK

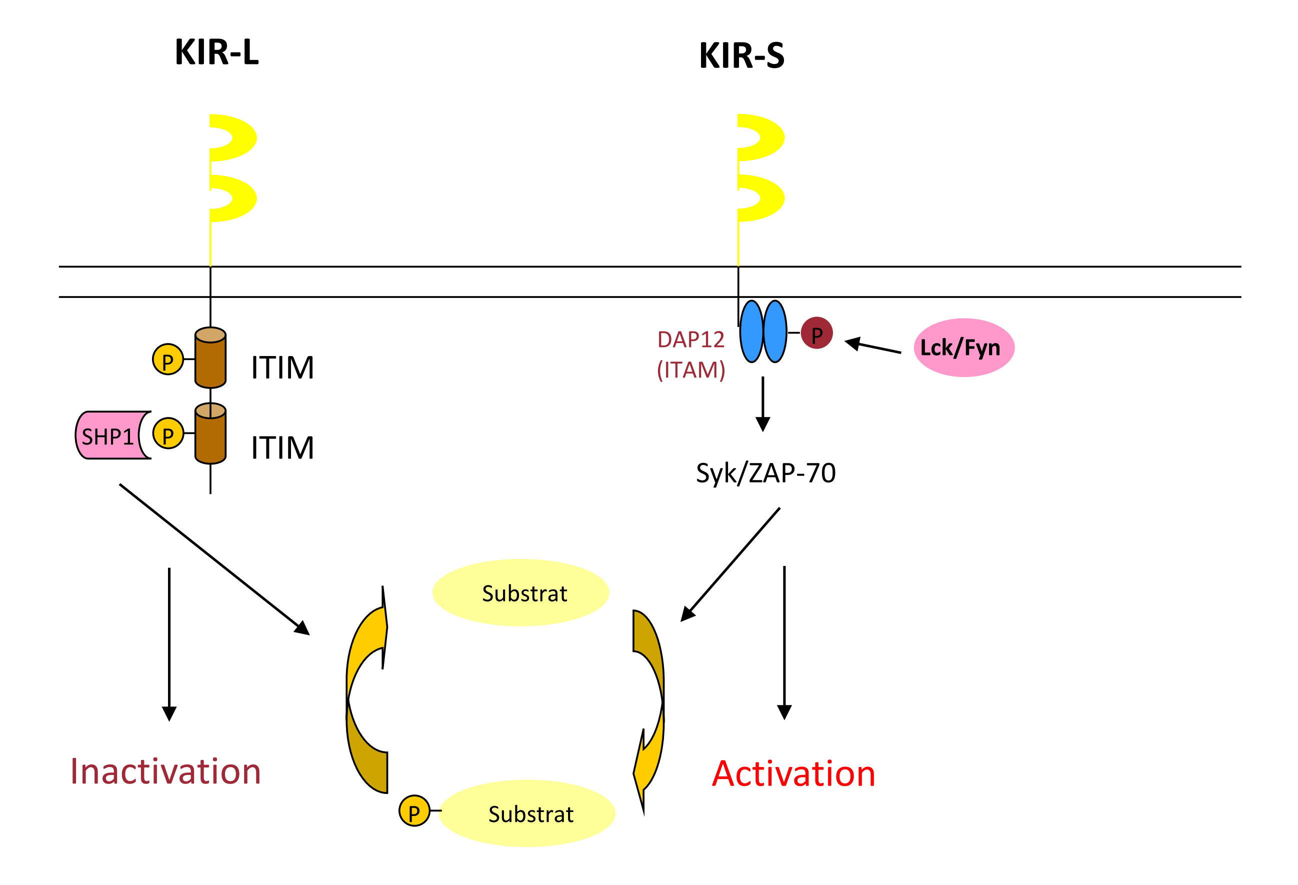


Activation ou inhibition de la lyse : balance des signaux



- Signal activateur : motifs ITAM et des kinases (Immune receptor Tyrosine-based Activation Motif)
- Signal inhibiteur recrute des phosphatases via les ITIM (Immune receptor Tyrosine-based Inhibitory Motif)

Signaling through KIRs in NK lymphocytes



Co-engagment of KIR-L and KIR-S resulted in an inhibitory signaling

Comment fonctionnent les cellules NK?

- L’activité cytolytique (tuer) des cellules NK doit être contrôlée
- La régulation prévient l’auto-réactivité (attaque de cellules saines et normales)
- Pour que les cellules NK tuent, elle doivent recevoir des signaux activateurs
  - Cytokines (ex: molécules de stress libérées par des cellules infectées)
  - Récepteurs Fc (récepteurs qui détectent des anticorps ayant reconnus des cellules infectées = cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps)
  - Récepteurs activateurs et inhibiteurs

Que reconnaissent les cellules NK?

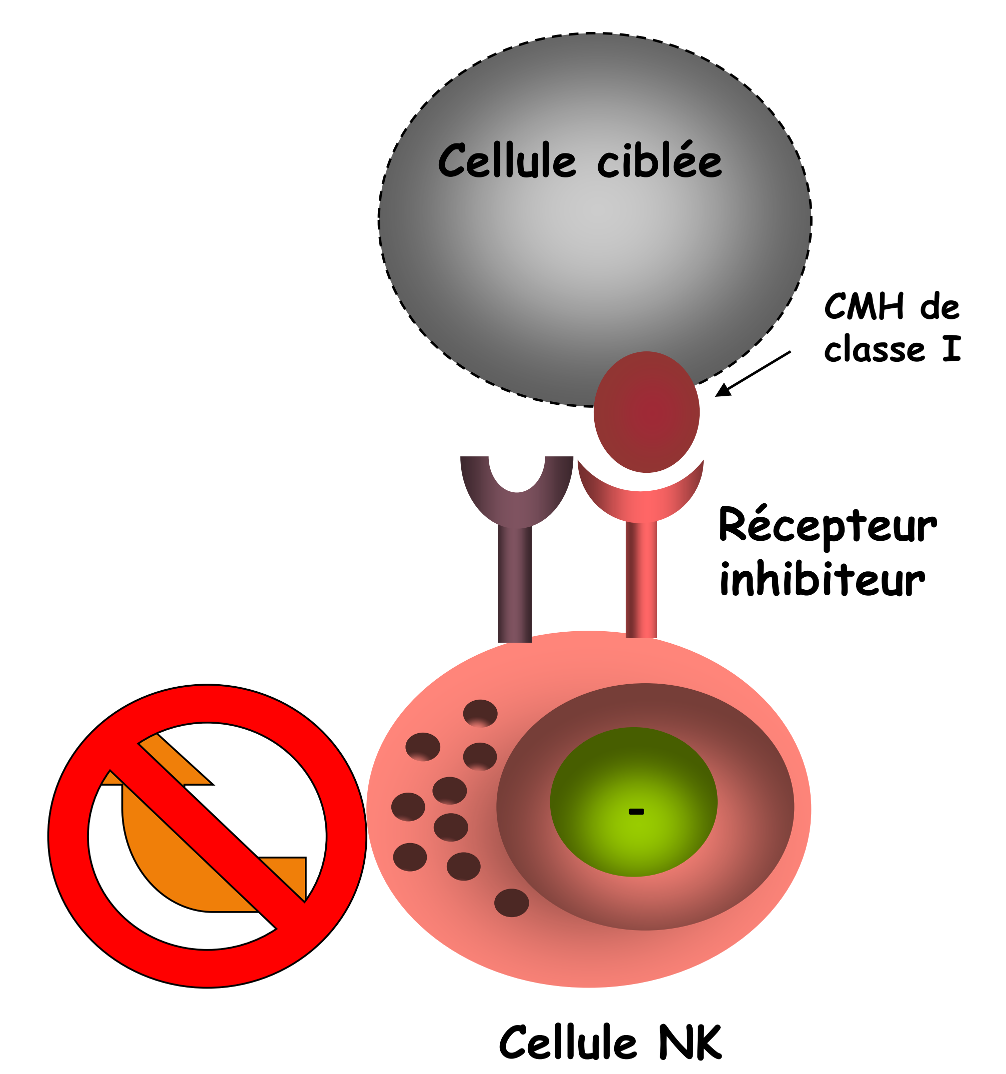
- Molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I sont des molécules de surface présentant des peptides du soi ou d'origine étrangère aux lymphocytes T
- Toutes les cellules nucléées expriment des CMH de classe I.

CMH I + peptide de soi= cellules saine

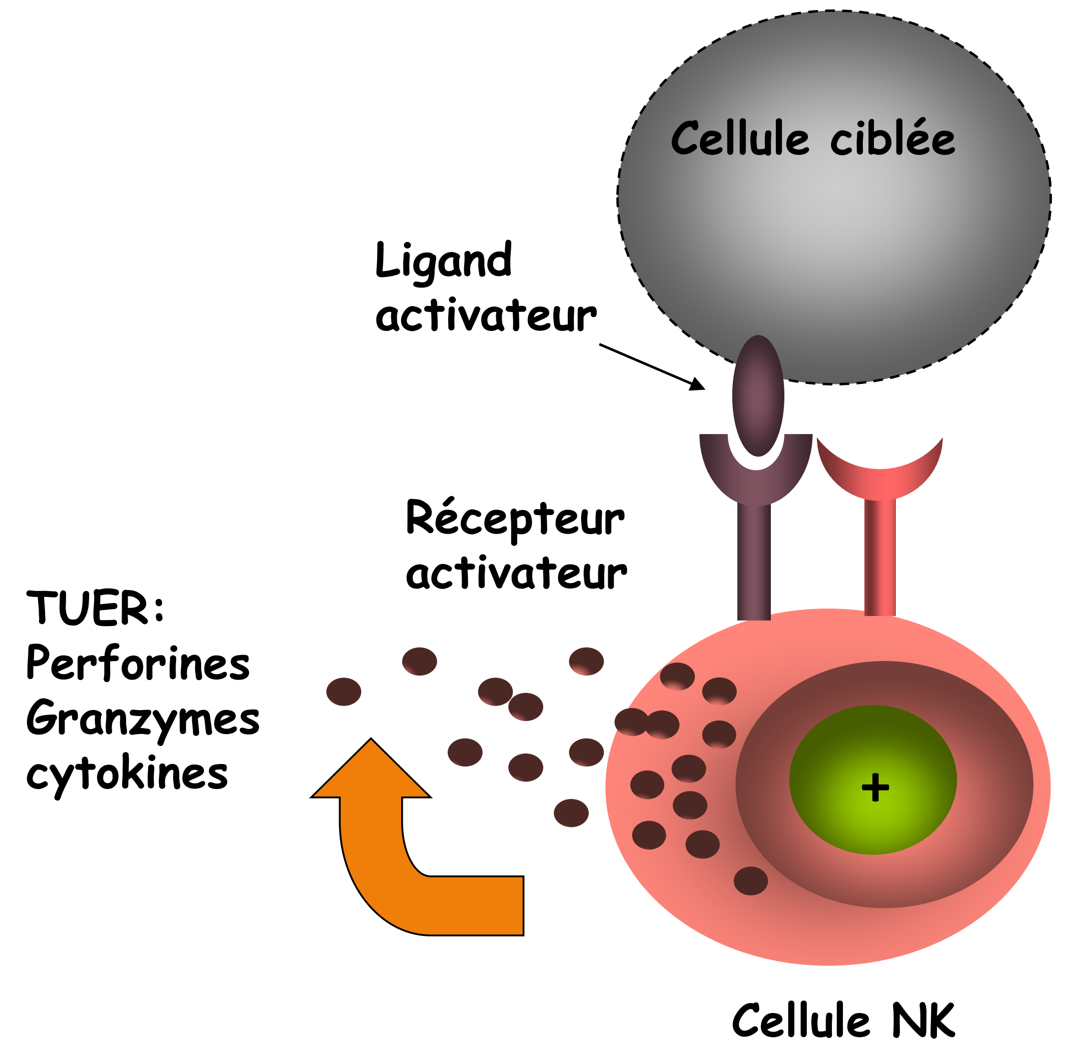
CMH I + peptide d'origine virale= cellule infectée par un virus

imitations virales de CMH= cellule infectée par un virus

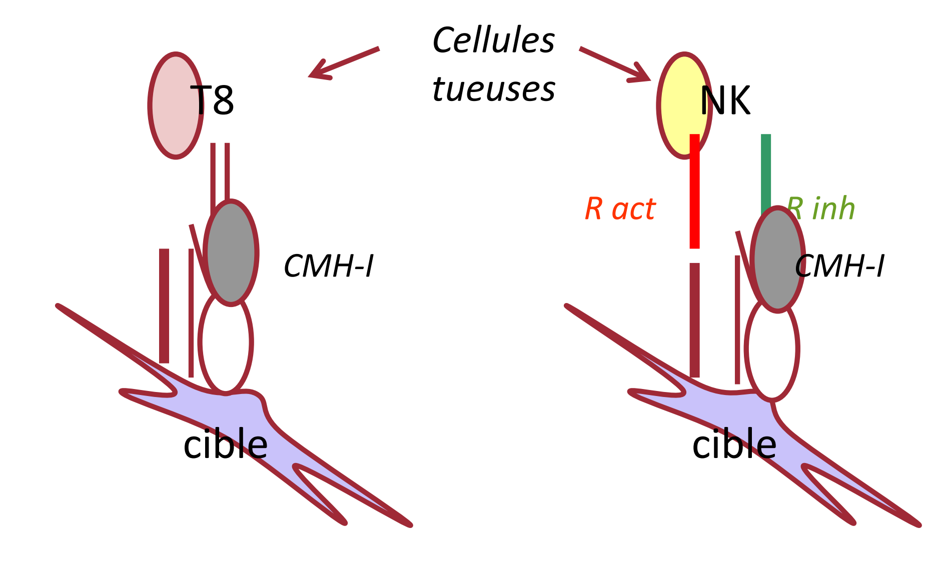
Les fonctions des cellules NK suivant leur inhibition



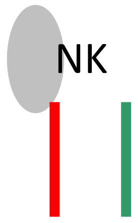
Les fonctions des cellules NK suivant leur activation



Reconnaissance de la cible



- Pas restreinte à un complexe CMH-peptide
- Balance entre :
  - Récepteurs inhibiteurs (tolérance au soi) « KIR » ligand = CMH-I
  - Récepteurs activateurs (lyse cible) ligand = non soi / soi altéré
- Répertoire NK :
  - Chaque individu diffère dans nb et type de récepteurs exprimés par ses NK
  - Chaque NK a une combi ≠ de R inh et R act, la plupart des NK a au moins 1 R inh
  - Existence d'une tolérance au soi = « nos propres NK ne nous attaquent pas »

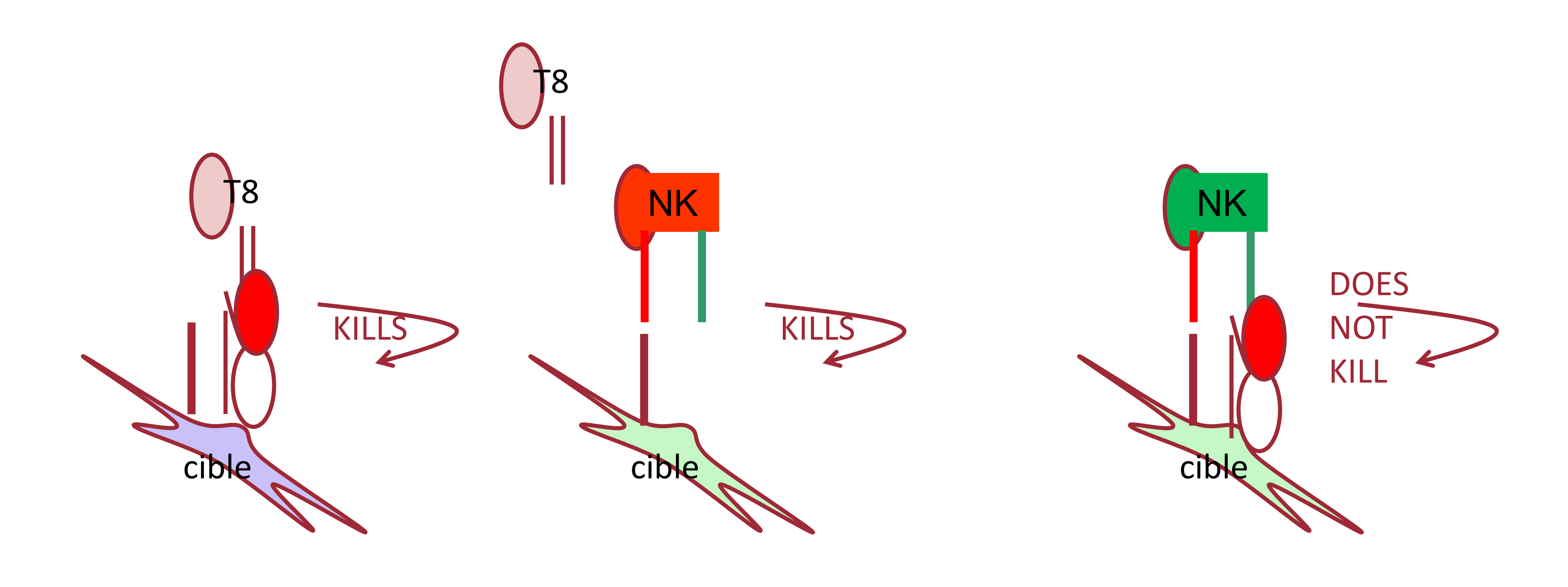


Hypothèse de la disparition du soi

- L'expression « disparition du soi » est utilisée pour décrire des cellules ayant une expression déficiente des CMH de classe I
- Cette situation est causée par une infection virale ou le cancer

Le « Missing-self » : la perte d'expression du CMH-I est reconnue par les NK

- La réponse cytotoxique par les T CD8 est CMH-I restreinte
- Les cellules tumorales / infectées peuvent down-réguler l'expression du CMH-I pour éviter d'être reconnues par les T8 cytotoxiques



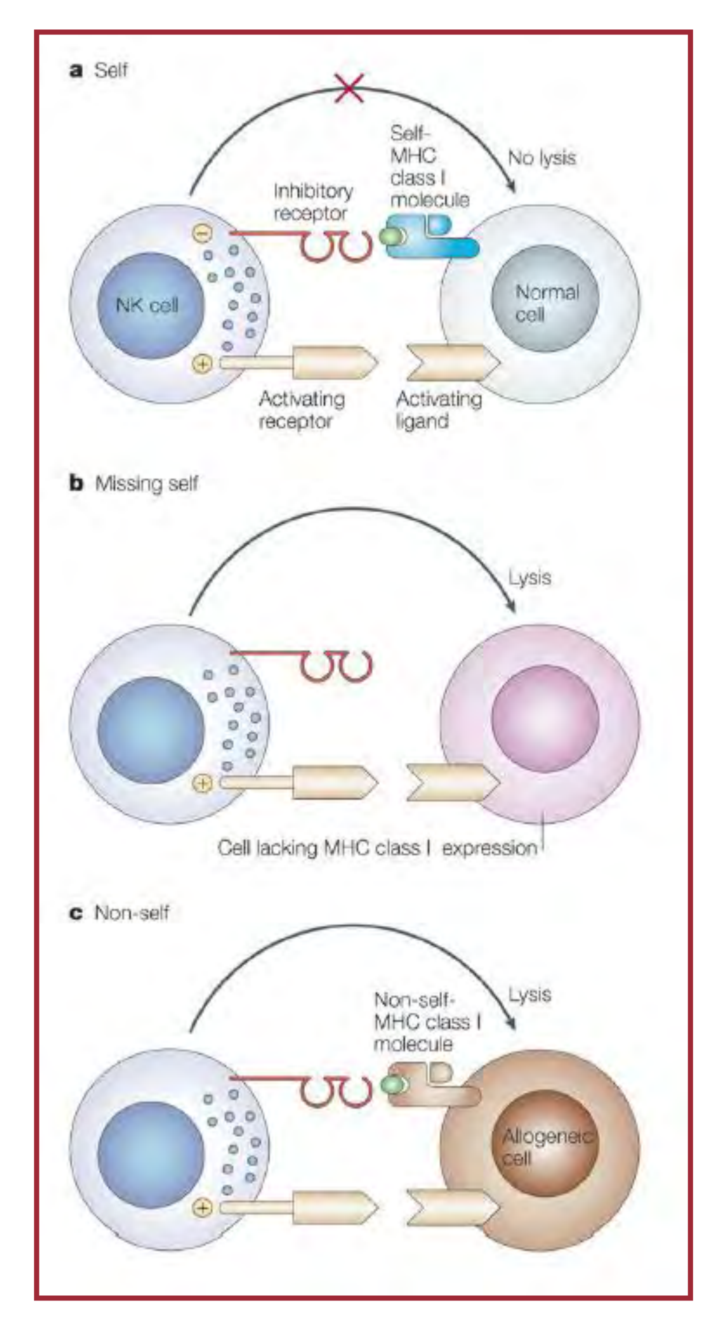
NK = stratégie complémentaire aux T8 cytotoxiques pour lutter contre les cellules du non-soi ou soi altéré

Perforine

- Présente uniquement dans des granules cytoplasmiques des cellules NK de souris
- Forme un trou dans la membrane cellulaire de la cellule ciblée permettant l'entrée des granzymes
- **Granulysine**, présente chez N.K. humaines et semble accomplir la même fonction que la perforine

Granzyme

- Protéase (coupe des protéines, tue la cellule ciblée) située dans les granules cytoplasmiques des cellules NK



Une cellule du soi est protégée de la lyse NK car le signal inhibiteur (CMH-I) l'emporte toujours sur l'activateur !

Une cellule « suspecte » (qui n'exprime pas de CMH-I) est lysée car aucun signal inhibiteur ne vient contrebalancer l'activateur

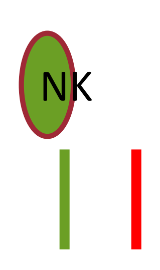
Une cellule allogénique est lysée car le CMH-I du non-soi ne déclenche pas de signal inhibiteur

« Ce n'est pas l'absence de molécules du CMH de classe I qui déclenche l'activation des lymphocytes NK mais la présence de ligands activateurs non compensée par des signaux inhibiteurs suffisants »

Notion d'équilibre / balance des signaux act et inh

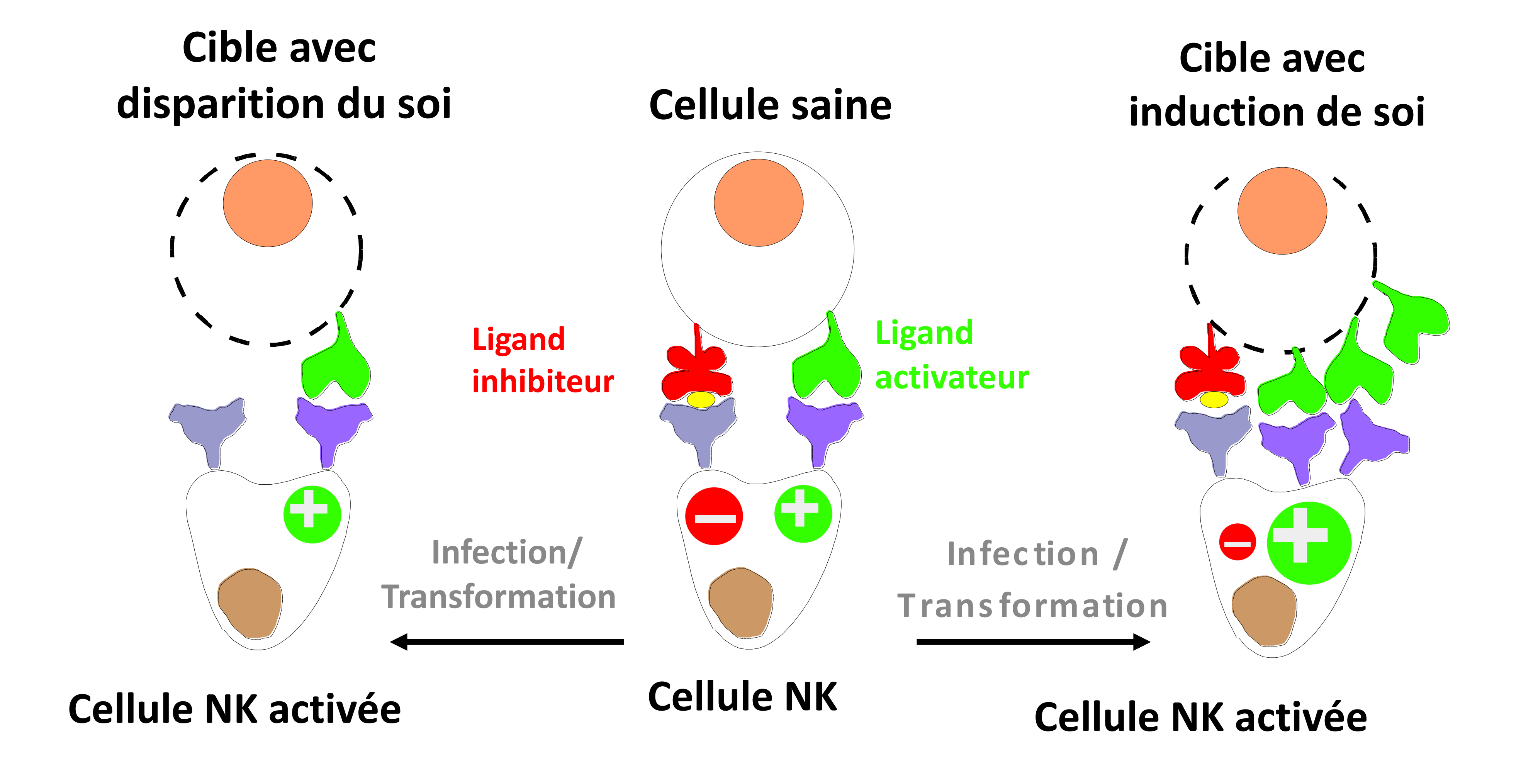
Ainsi, l'absence de molécules du CMH-I ne suffit pas à rendre certaines cellules sensibles à la lyse NK, par exemple :

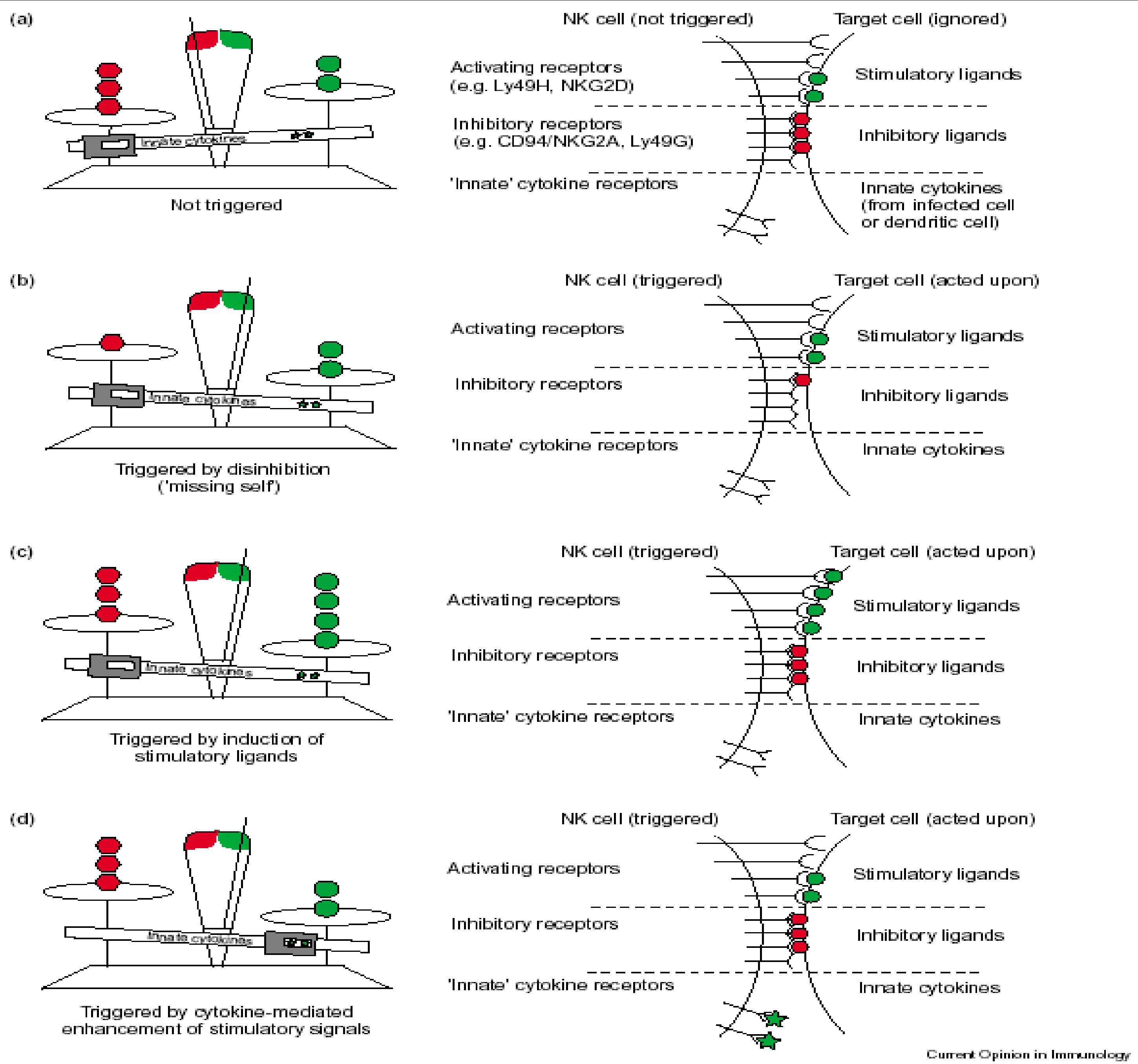
- *globules rouges*
- *neurones*
- *hépatocytes*



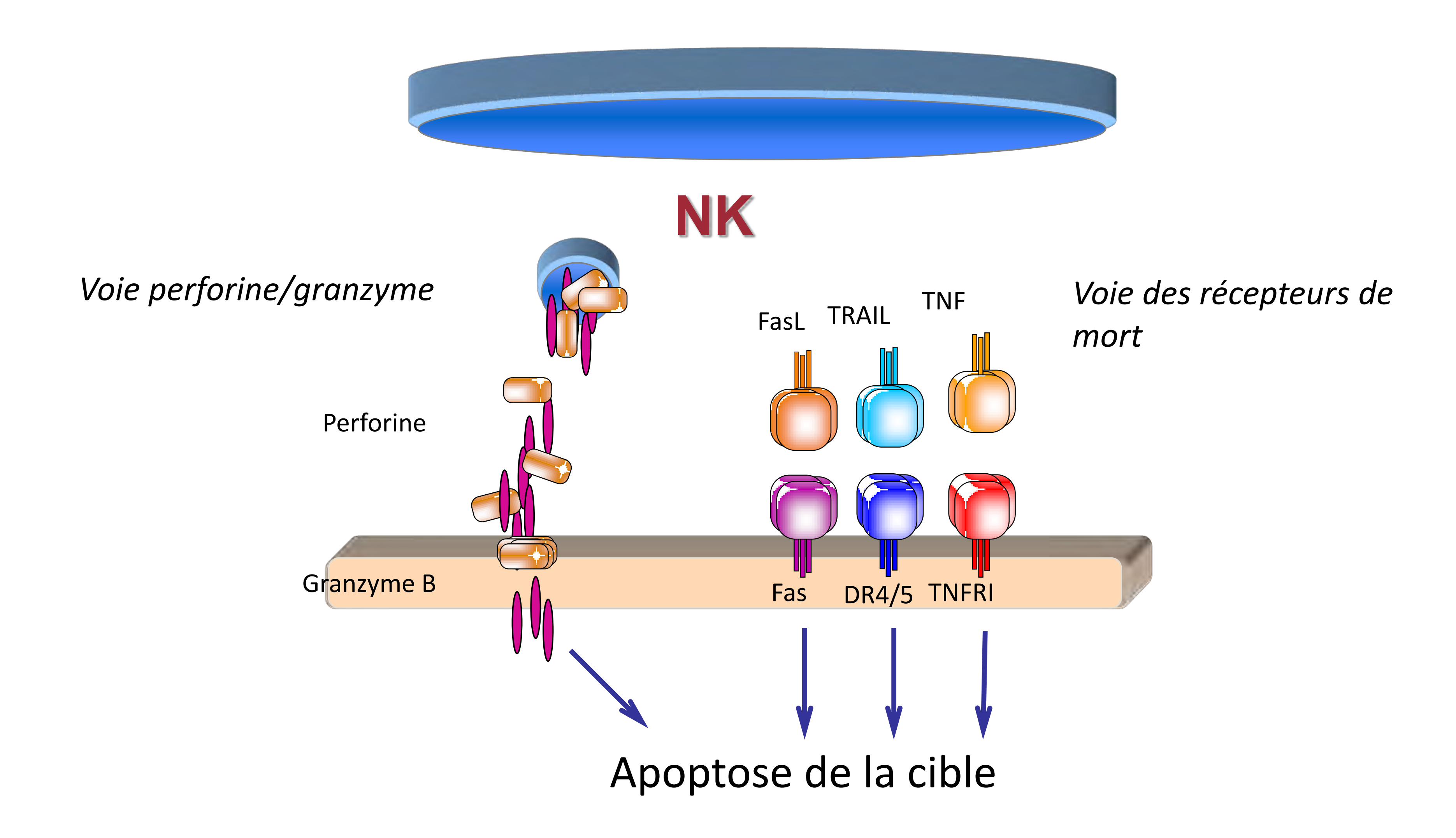


La somme des signaux activateurs et inhibiteurs dicte la reconnaissance des cellules ciblées par les cellules NK

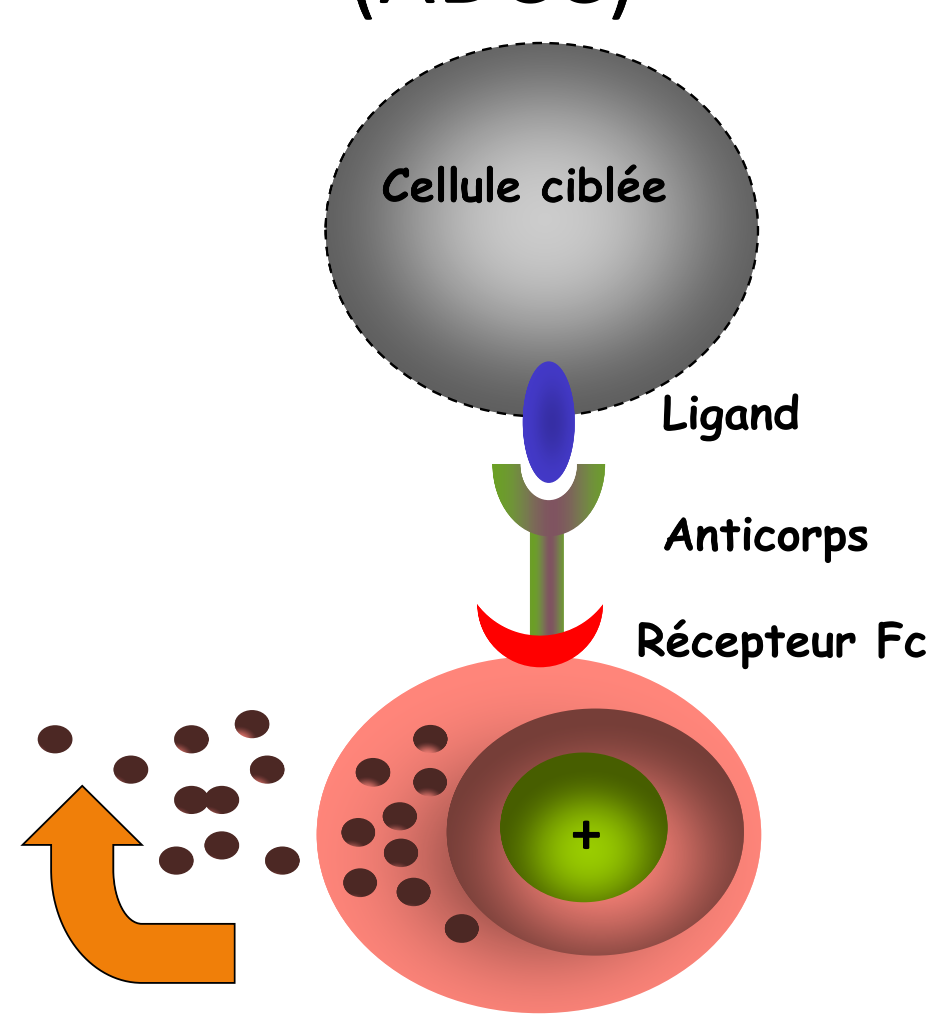



(a)
Innate cytokines
Not triggered
NK cell (not triggered)
Target cell (ignored)
Activating receptors
(e.g. Ly49H, NKG2D)
Stimulatory ligands
Inhibitory receptors
(e.g. CD94/NKG2A, Ly49G)
Inhibitory ligands
'Innate' cytokine receptors
Innate cytokines
(from infected cell
or dendritic cell)
(b)
Innate cytokines
Triggered by disinhibition
('missing self')
NK cell (triggered)
Target cell (acted upon)
Activating receptors
Stimulatory ligands
Inhibitory receptors
Inhibitory ligands
'Innate' cytokine receptors
Innate cytokines
(c)
Innate cytokines
Triggered by induction of
stimulatory ligands
NK cell (triggered)
Target cell (acted upon)
Activating receptors
Stimulatory ligands
Inhibitory receptors
Inhibitory ligands
'Innate' cytokine receptors
Innate cytokines
(d)
Innate cytokines
Triggered by cytokine-mediated
enhancement of stimulatory signals
NK cell (triggered)
Target cell (acted upon)
Activating receptors
Stimulatory ligands
Inhibitory receptors
Inhibitory ligands
'Innate' cytokine receptors
Innate cytokines
Current Opinion in Immunology

Cytotoxicité NK



Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC)



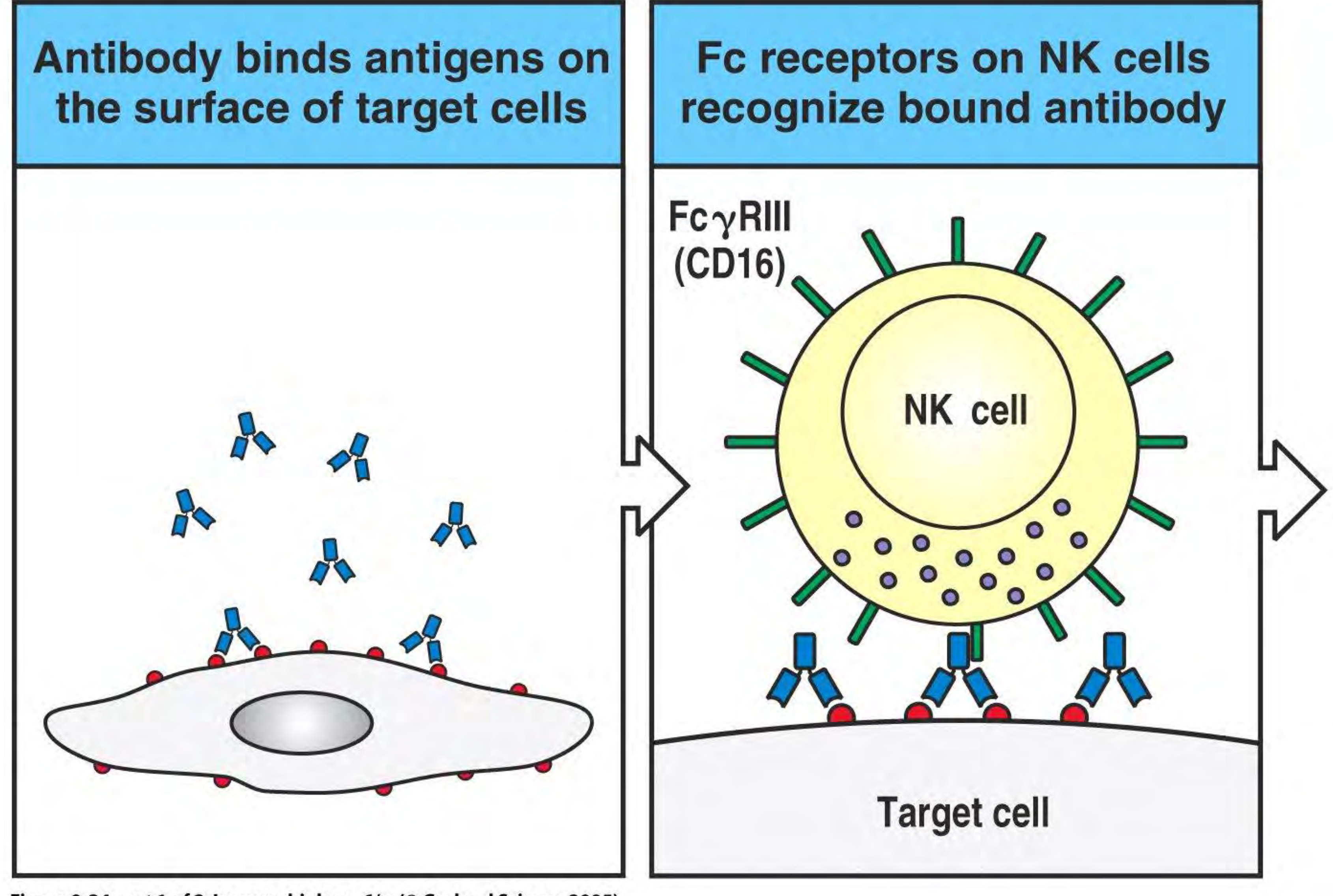


Figure 9-34 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

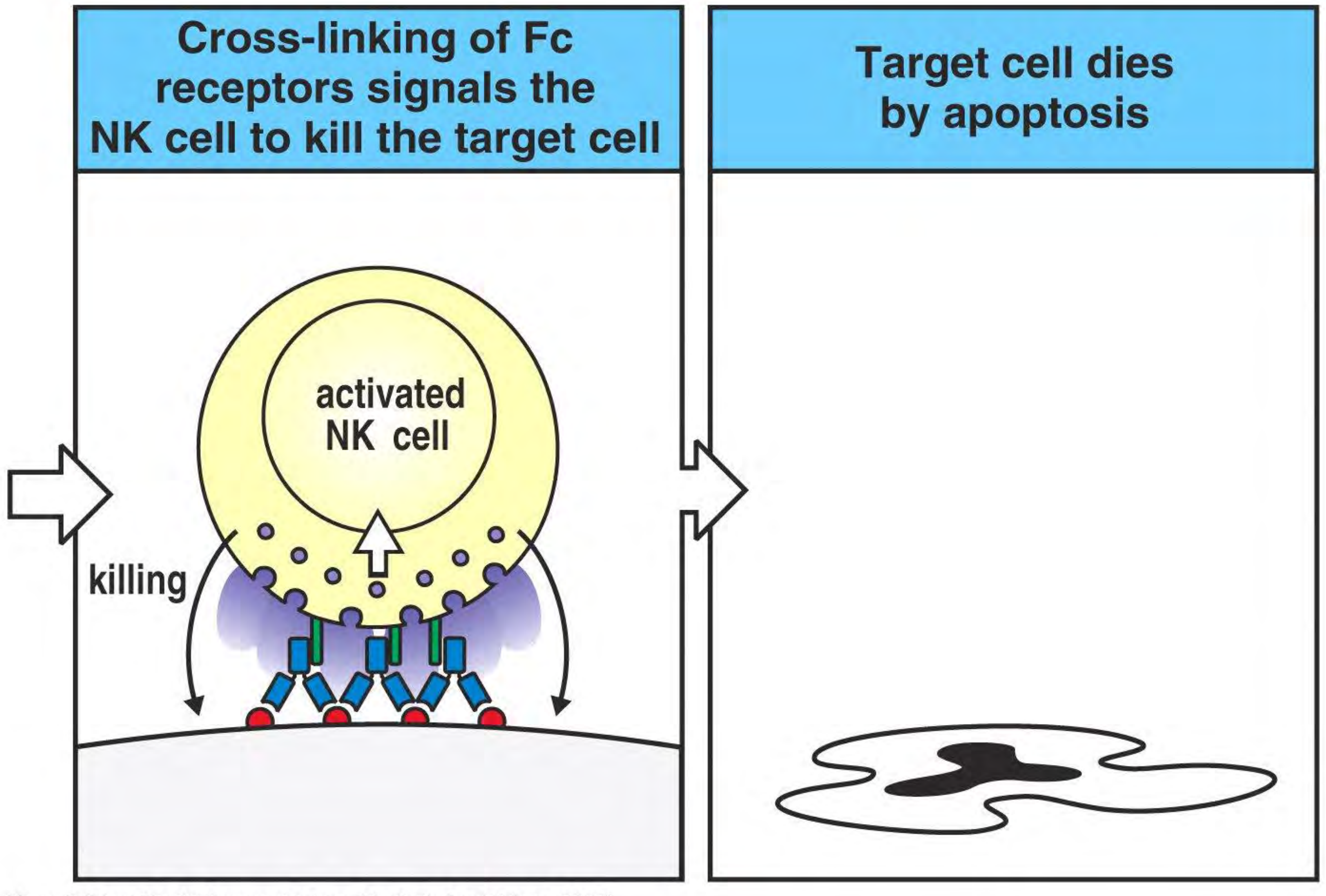


Figure 9-34 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

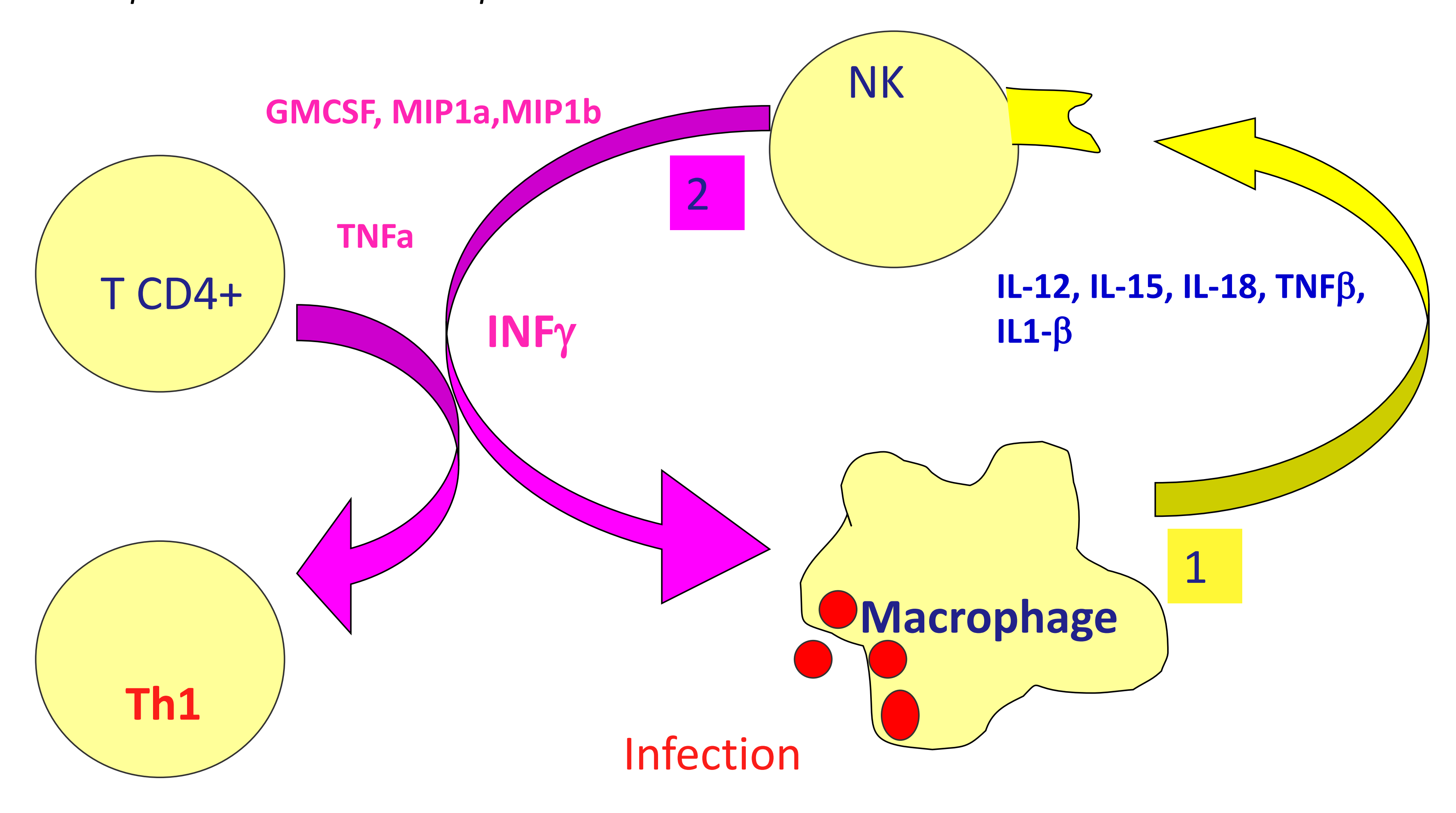
Mécanismes effecteurs

- Lyse de la cible selon 4 systèmes :
  - ADCC
  - Perforin-granzyme
  - Fas/FasL
  - TRAIL/TRAIL-R

- Synthèse de cytokines : TNF-α, IFN-γ, GM-CSF :
  - Orientation Th1
  - Activation MΦ et des DC

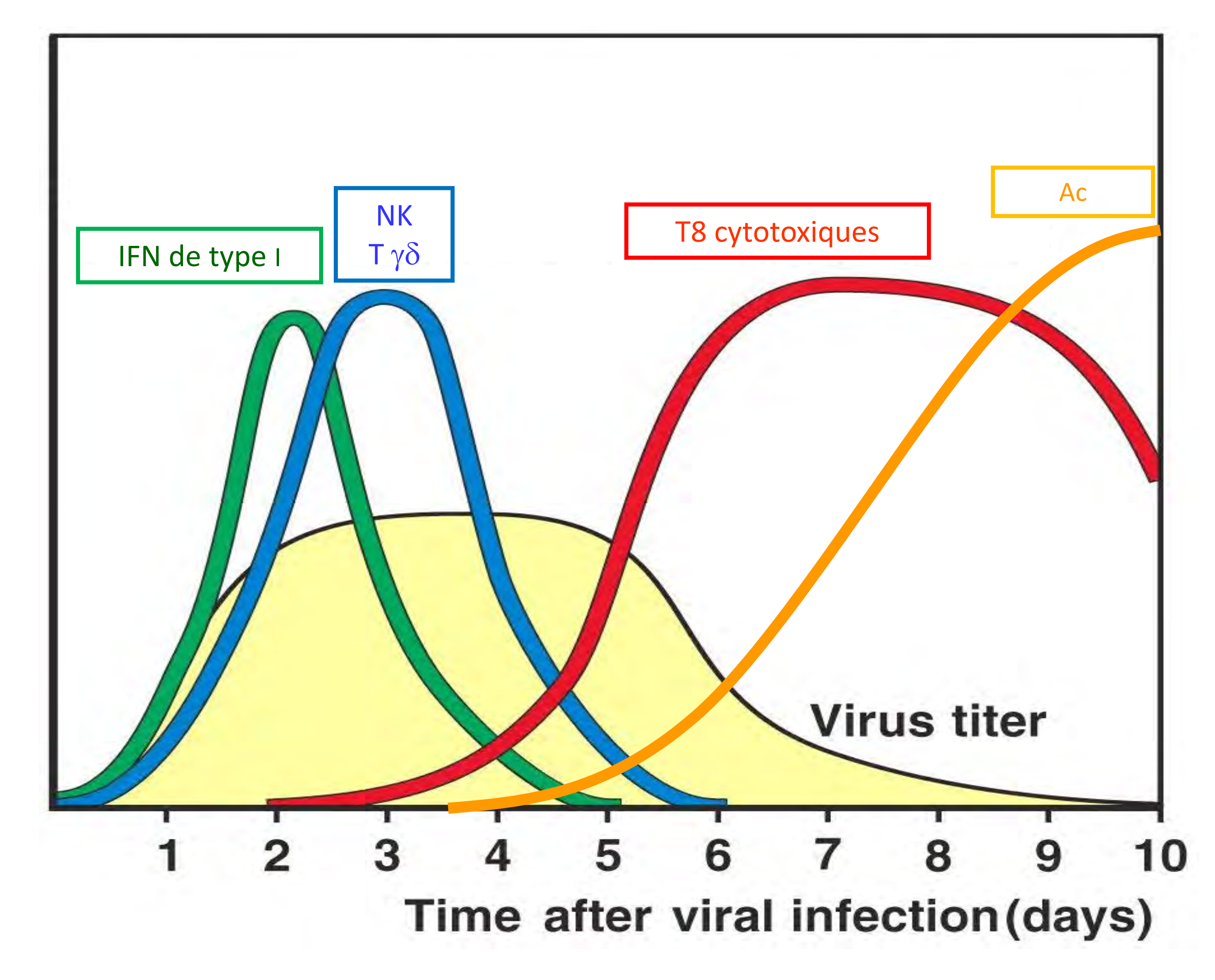
- Synthèse de chimiokines inflammatoires : CCL3, CCL4, CCL5 :
  - Recrutement MΦ
  - DC immatures
  - T activés

La cellule NK n'est donc pas seulement un " tueur " du système immunitaire, mais une cellule potentiellement capable par sa production de cytokines d'orienter la réponse immunitaire adaptative.



Les cellules NK sont régulées par les cytokines et produisent des cytokines

Cinétique de la réponse immunitaire



V) IMPLICATION DES CELLULES N.K. DANS LA R.I.

- Arguments in-vivo et in-vitro en faveur d’une implication des cellules N.K. dans l’immunité anti-infectieuse, dans l’immunité anti-tumorale et dans les pathologies auto-immunes

CONCLUSION

♦Les NK sont des Ly ayant d'importantes propriétés **cytotoxiques et sécrétoires.**

♦Elles forment **la première ligne de défense** contre les cellules infectées et cancéreuses, même après l'élaboration de la R.I. spécifique de l'antigène.

♦Après activation par des récepteurs activateurs, récepteurs Fc et cytokines sécrétées par des cellules en détresse, les NK libèrent leur arsenal de **perforines** et de **granzymes** contre les cellules ciblées

♦La **somme des signaux** reçus à l'aide des récepteurs activateurs et inhibiteurs détermine l'action des cellules NK.

♦ L'activité cytotoxique de ces cellules, ne nécessitant ni immunisation préalable ni présentation antigénique par le CMH-1, les rend **complémentaires des lymphocytes T cytotoxiques.**

♦**Elles sont régulées par un équilibre délicat entre des signaux activateurs et inhibiteurs venant de leurs récepteurs membranaires**.

♦L'utilisation de cytokines (IL-2, IL-15 et interféron-alpha) modulant l'activité des cellules NK pourrait avoir des applications intéressantes en thérapeutique anti-infectieuse et antitumorale.

MERCI POUR VOTRE ATTENTION